

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
15. September 2005 (15.09.2005)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2005/084684 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **A61K 31/661**, 31/726, 31/728, 38/17, A61P 19/02

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/CH2004/000131

(22) Internationales Anmeldedatum:
5. März 2004 (05.03.2004)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von CA, US): **SYNTHES AG CHUR [CH/CH]**; Grabenstrasse 15, CH-7002 Chur (CH).

(71) Anmelder (nur für CA): **SYNTHES (U.S.A.) [US/US]**; 1690 Russell Road, P. O. Box 1766, Paoli, PA 19301-1222 (US).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **WIMMER, Markus [DE/US]**; 1015 W. Buena Ave., Chicago, IL 60613 (US). **ALINI, Mauro [CH/CH]**; Turbanstrasse 5, CH-7270 Davos Platz (CH). **KAUP, Thomas [DE/CH]**; Biregstrasse 16, CH-6003 Luzern (CH).

(74) Anwalt: **LUSUARDI, Werther**; Dr. Lusuardi AG, Kreuzbühlstrasse 8, CH-8008 Zürich (CH).

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) **Title:** USE OF A MIXTURE FOR THE PRODUCTION OF AN AGENT FOR TREATING DEFECTIVE OR DEGENERATED CARTILAGE IN THE PRODUCTION OF NATURAL CARTILAGE REPLACEMENT IN VITRO

(54) **Bezeichnung:** VERWENDUNG EINES GEMISCHES FÜR DIE HERSTELLUNG EINES MITTELS ZUR BEHANDLUNG VON DEFEKTEM ODER DEGENERIERTEM KNORPEL IN VIVO UND BEI DER HERSTELLUNG VON NATÜRLICHEM KNORPELERSZY IN VITRO

(57) **Abstract:** A mixture of one or several substances from group A) lubricin, proteoglycan 4 (PRG4) and phospholipid (SAPL); with one or several substances from group B) hyaluronic acid, glycosaminoglycan and derivatives of said substances; dissolved in a solvent, used for the production of an agent for treating defective or degenerated cartilage in vivo. Said mixture can also be used to produce natural cartilage replacement in vitro.

(57) **Zusammenfassung:** Ein Gemisch aus einer oder mehreren Substanzen der Gruppe A) Lubricin, Proteoglycan 4 (PRG4) und Phospholipid (SAPL); mit einer oder mehreren Substanzen der Gruppe B) Hyaluronsäure, Glycosaminoglycan und Derivate dieser Substanzen; aufgelöst in einem Lösungsmittel, wird für die Herstellung eines Mittels zur Behandlung von defektem oder degeneriertem Knorpel in vivo verwendet. Dieses Gemisch kann ebenfalls für die Herstellung von natürlichem Knorpelersatz in vitro verwendet werden.

WO 2005/084684 A1

Verwendung eines Gemisches für die Herstellung eines Mittels zur Behandlung von defektem oder degeneriertem Knorpel in vivo und bei der Herstellung von natürlichem Knorpelersatz in vitro.

Die Erfindung bezieht sich auf die Verwendung eines Gemisches für die Herstellung eines Mittels zur Behandlung von defektem oder degeneriertem Knorpel in vivo gemäss dem Oberbegriff des Patentanspruchs 1 sowie auf die Verwendung dieses Gemisches bei der Herstellung von natürlichem Knorpelersatz in vitro gemäss Anspruch 9.

Permanente Schmerzen, Unbeweglichkeit und eine Beeinträchtigung des Gelenkes sind typische Anzeichen für eine Verletzung des Knorpels durch einen Unfall oder Osteoarrose. Der Erfolg von chirurgischen Eingriffen bei Gelenkverletzungen wie z.B. die Osteotomie, Verpflanzung des Perichondriums oder der Einsatz einer Arthroplastik ist beschränkt. In der Regel wird durch eine Operation nie die natürliche Hyalinstruktur eines gesunden Knorpels erreicht.

Es wird angestrebt für die Behandlung von Knorpeldefekten Gerüste aus Polymerwerkstoffen zu implantieren, welche mit Chondrozyten besiedelt werden. Sie dienen hierbei als Trägerwerkstoff für die Chondrozyten und sind als resorbierbarer oder nicht-resorbierbarer Werkstoff verfügbar. In den letzten Jahren wurden Gerüste aus natürlichen und synthetisch resorbierbaren Trägerwerkstoffen entwickelt und getestet. Dabei wurde festgestellt, dass diese in vitro gezüchteten knorpelähnlichen Konstruktionen weder die biochemischen noch die biomechanischen Eigenschaften von *in vivo* Geweben erreichen.

In der klinischen Behandlung von Knorpeldefekten kommen mehrere Methoden zur Anwendung. In der Vergangenheit wurde das beschädigte Knorpelgewebe vorwiegend mechanisch entfernt. Neue Behandlungsmethoden transplantieren Chondrozyten und Periost oder Perichondrium zur Schliessung der Läsion.

Die Methode der Ausfräsumg wurde erstmals 1959 von Pridie beschrieben. Das Verfahren der abrasiven Entfernung wurde in den Achtzigerjahren entwickelt. Beide Methoden beruhen auf demselben Prinzip. Die defekten Knorpelstellen werden bis auf den blutenden Knochen abgetragen. Es wird soviel Knorpel entfernt, bis der Übergang vom Knochen zum Knorpel ausschliesslich von unbeschädigtem Knorpel gebildet wird. Die Heilung des Knorpels wird durch die reichhaltige Nährstoffversorgung der geöffneten Blutgefässer des Knochens gefördert. Zahlreiche Studien zeigen, dass das nachwachsende Gewebe überwiegend aus Faserknorpel besteht und nicht aus hyalinem Knorpel der eigentlich zu einer dauerhaften Regeneration notwendig wäre.

Andere Verfahren bedienen sich osteochondraler Transplantate. Diese Transplantate, entweder als Autograph oder Allograph, werden in den Knorpeldefekt eingesetzt und im subchondralen Knochen verankert. Im ersten Fall (Autograph), sind Organspender und Wirt ein und dieselbe Person, im zweiten Fall (Allograft) sind sie unterschiedlich, jedoch von der selben Spezies. Mit Hilfe eines Stanzwerkzeuges werden zylindrische Knorpelstifte zusammen mit dem subchondralen Knochen aus der Spenderregion entfernt und in der Defektzone mittels einer vorgefertigten Presspassung verankert. Je nach Grösse der Defektzone werden ein Stift oder mehrere Stifte (-> Mosaikplastik) eingesetzt, um geschädigte Oberfläche zu schliessen.

Bei der Transplantation von Chondrozyten werden Chondrozyten aus Knorpelregionen des Knies entfernt, die nicht so stark beansprucht werden. Die entnommenen Zellen werden innerhalb von 14 bis 21 Tagen in Nährösung vermehrt. Nach der Kultivierung werden die Zellen in die Region des Defektes injiziert und mit einem Stück Periost oder Perichondrium abgedeckt. Nach 2 Jahren kann durch eine Biopsie gezeigt werden, dass sich hyaliner Knorpel gebildet hat. In einer Studie wurde das klinische Ergebnis von 14 aus 16 Patienten als gut bis sehr gut beschrieben. Eine Studie in Schweden mit 400 Patienten zeigte vergleichbare Ergebnisse.

Die Funktion von Gelenkknorpel besteht einerseits in der Aufnahme und Verteilung von Kräften, welche bei der Belastung des Gelenkes auftreten und anderseits in der Zurverfügungstellung einer schmierenden Oberfläche, welche den Abrieb und die Degradierung des Gelenkes verhindert. Die erste Funktion wird durch eine einzigartige Zusammensetzung und Struktur der extrazellulären Matrix sichergestellt, die zweite

Funktion hängt dagegen von einer funktionellen Interface Knorpel-Synovia ab. Gerade bei Patienten mit degenerativ veränderten oder anderweitig in Mitleidenschaft gezogenen Knorpelflächen, sind diese Funktionen gestört.

Hier will die Erfindung Abhilfe schaffen. Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, einerseits ein Mittel zur Behandlung von defektem oder degeneriertem Knorpel *in vivo* zu schaffen und anderseits eine verbesserte Herstellung von natürlichem Knorpelersatz *in vitro*, insbesondere für Knorpeldefekte im Gelenkbereich, zur Verfügung zu stellen.

Die Erfindung löst die gestellte Aufgabe mit einem Mittel, welches die Merkmale des Anspruchs 1 aufweist, sowie einer Verwendung dieses Mittels, welche die Merkmale des Anspruchs 9 aufweist.

Als Lubricin wird das schmierende Glycoprotein-1 (LGP-1) benannt, welches aus dem gleichen Gen hergestellt wird wie der Megakaryocyt-Stimulierungsfaktor (MSF) durch alternatives Splicing. Lubricin hat ein Molekulargewicht von ungefähr 230 kDa (gereinigte Form in der humanen Synovial-Flüssigkeit) und ist hochgradig glycosyliert.

Als Proteoglycan 4 (PRG4) wird das Oberflächenzonenprotein (SZP) benannt, welches durch alternatives Splicing aus dem MSF Gen gewonnen wird. Es hat ein Molekulargewicht von ungefähr 340 kDa (aus humanem Gelenkknorpel) und trägt mehrere Oligosaccharid-Reste sowie Glycosaminoglycan-Ketten. Es hat sich gezeigt, dass die Verwendung von SZP und ähnlicher Substanzen (Gruppe A) im erfindungsgemässen Gemisch nicht nur eine starke Schmierwirkung zeigt, sondern auch als chondroprotektives Molekül wirkt, welches einen Schutz für die tieferliegenden Knorpelzellen gewährt.

SZP wurde ursprünglich aus Kulturflüssigkeiten von Explantaten isoliert und gereinigt, welche aus der Oberflächenzone von bovinem Knorpel stammten. SZP kann durch Chondrozyten in der Oberflächenzone synthetisiert werden, jedoch nicht aus den mittleren und tieferen Zonen.

Die Hyaluronsäure besteht aus Glucuronsäure und Acetylglucosamin, die das Disaccharid Hyaluburonsäure aufbauen. Hyaluronsäure bildet infolge ihrer fadenförmigen, unverzweigten Molekülstruktur hochviskose Lösungen. Hyaluronsäure besitzt zwar keine direkten Schmiereigenschaften, doch ist sie wichtig für das rheologische Verhalten der Synovial-Flüssigkeit durch Einstellung eines geeigneten Viskositätsgrades, welcher ein Ausfliessen der Synovial-Flüssigkeit während der Belastungsphase des Gelenkes verhindert.

Es wurde nun überraschend gefunden, dass eine Mischung von Lubricin (oder ähnlichen Substanzen gemäss Gruppe A) mit Hyaluronsäure (oder ähnlichen Substanzen gemäss Gruppe B) in einem geeigneten Lösungsmittel in synergistischer Weise die Wirkung beider Substanzen verstärkt.

Weitere vorteilhafte Ausgestaltungen der Erfindung sind in den abhängigen Ansprüchen gekennzeichnet.

Die durch die Erfindung erreichten Vorteile sind im wesentlichen die folgenden:

- Bei Patienten mit Osteoarthrose kommt es durch eine verbesserte Schmierung zur Schmerzreduktion und zu einer Verzögerung oder gar Verhinderung einer weiteren Knorpeldegradation
- Bei Patienten mit Hemiarthroplastik lässt sich durch die verbesserte Schmierung eine Reduktion der Knorpeldegeneration und ein verminderter Abrieb des Kunstgelenkes erwarten. Dadurch steigt die Lebensdauer des Implantates und eine Revision kann verhindert oder verzögert werden.
- Bei Patienten mit Knorpeltrauma bzw. operativen Eingriffen werden durch die Schmierung die Scherkräfte an der (Schnitt)wunde reduziert, wodurch es zu einer besseren Heilung der beiden Gewebehälften kommt;
- Die Schmierung von Gelenken bei Osteoarthrose, Hemiprothesen, nach oestochondralem Transplantat und autologem Zelltransplantat (ACT) oder nach einer Meniskus-Operation.

Die verbesserte Schmierung wird sowohl beim natürlichen Gelenk (insbesondere in Fällen von Osteoarthritis und rheumatoider Arthritis) als auch beim künstlichen Gelenk erreicht. Bei Hüft-Totalprothese wird die Schmierung zwischen dem Polyethylen der Acetabulum-Komponente und dem Metall des Hüftkopfes der Schaft-Komponente verbessert.

Bei einer besonderen Ausführungsform sind die verwendeten Phospholipide oberflächenaktiver Natur. Die dadurch resultierende Grenzflächenschmierung bewirkt eine weniger starke Knorpelschädigung im weiteren Verlauf.

Die zu verwendende Hyaluronsäure weist zweckmässigerweise ein Molekulargewicht von mindestens 1×10^6 Da auf.

Vorteilhafterweise liegt das Gewichtsverhältnis A/B zwischen den Substanzen der Gruppe A [Lubricin, Proteoglycan 4 (PRG4) und Phospholipide (SAPL)] und der Gruppe B [Hyaluronsäure, Glycosaminoglycan und Derivate dieser Substanzen] im Bereich von 0,05 und 0,40, vorzugsweise im Bereich von 0,08 und 0,25.

Das zu verwendende Lösungsmittel ist vorteilhafterweise eine Ringer-Lösung, vorzugsweise eine physiologische Kochsalzlösung.

Die Konzentration der Substanzen der Gruppe A im Lösungsmittel liegt vorzugsweise im Bereich von 0,02 bis 0,05 Gew.-% und diejenige der Substanzen der Gruppe B im Bereich von 0,2 bis 0,4 Gew.-%.

Das Gemisch aus einer oder mehreren Substanzen der Gruppe
A) Lubricin, Proteoglycan 4 (PRG4) und Phospholipide (SAPL);
mit einer oder mehreren Substanzen der Gruppe
B) Hyaluronsäure, Glycosaminoglycan und Derivate dieser Substanzen;
aufgelöst in einem Lösungsmittel,

kann auch zur Herstellung von natürlichem Knorpelersatz *in vitro* verwendet werden. Ein solches Gemisch kann auch für ein Verfahren zur Herstellung eines Knorpelersatzmaterial für Knorpeldefekte im Gelenkbereich verwendet werden, wobei

ein offenporiger, elastischer Zellträger-Körper in seinen Poren mit Chondrozyten besiedelt wird und dieses Gemisch in einem physiologisch akzeptablem Lösungsmittel aufgelöst mit den Chondrozyten in Kontakt gebracht wird.

Bei diesem Verfahren wird das Lösungsmittel vorzugsweise mit einer laminaren Strömung über den Zellträger-Körper bewegt.

Bei einer besonderen Ausführungsform dieses erfindungsgemäßen Verfahrens wird mittels einer gelenkkugelähnlichen Vorrichtung gleichzeitig eine axiale und eine rotative Kraft auf den Zellträgerkörper aufgebracht. Vorzugsweise wird die Rotation der gelenkkugelähnlichen Vorrichtung um zwei orthogonal zueinander stehende Achsen durchgeführt. Der Vorteil dieser Massnahme liegt darin begründet, dass bei entsprechender Phasenverschiebung Bewegungstrajektorien eingestellt werden können, welche denjenigen humaner Gelenke hinsichtlich Distanz, Form und Geschwindigkeit nahekommen.

Die Erfindung und Weiterbildungen der Erfindung werden im folgenden anhand mehrerer Ausführungsbeispiele noch näher erläutert.

Beispiel 1

4 mg Lubricin und 40 mg Hyaluronsäure wurden in 20 ml physiologischer Kochsalzlösung (Ringerlösung) aufgelöst. Während 10 Wochen wurde einmal pro Woche ein Volumen von 2 ml der solcherart erhaltenen Lösung einem Patienten mit Osteoarthritis *in situ* in das Kniegelenk injiziert. Vor der Injektion wurde das Gelenk aspiriert, um eine Verdünnung der injizierten Lösung zu verhindern.

Der damit behandelte Patient hatte weniger Schmerzen und eine bessere Beweglichkeit des Kniegelenkes. Eine weitere Spülung zu einem späteren Zeitpunkt zeigte eine deutliche Reduktion loser Knorpelteilchen im Aspirat.

Beispiel 2

4 mg Lubricin und 40 mg Glycosaminoglycan wurden in 20 ml physiologischer Kochsalzlösung (Ringerlösung) aufgelöst. Während 10 Wochen wurde einmal pro Woche ein Volumen von 1 ml der solcherart erhaltenen Lösung einem Patienten mit Osteoarthritis *in situ* in das Hüftgelenk injiziert. Vor der Injektion wurde das Gelenk

aspiriert, um eine Verdünnung der injizierten Lösung zu verhindern. Der damit behandelte Patient hatte weniger Schmerzen und eine bessere Beweglichkeit des Hüftgelenkes.

Beispiel 3

5 mg Lubricin und 40 mg Hyaluronsäure wurden in 20 ml physiologischer Kochsalzlösung (Ringerlösung) aufgelöst. Während 5 Wochen wurde einmal pro Woche ein Volumen von 2 ml der solcherart erhaltenen Lösung einem Patienten mit rheumatoider Arthritis *in situ* in die Fingergelenke injiziert. Vor der Injektion wurden die Gelenke aspiriert, um eine Verdünnung der injizierten Lösung zu verhindern. Der damit behandelte Patient hatte weniger Schmerzen und eine bessere Funktion der Hand durch den gesteigerten Bewegungsumfang der Fingergelenke.

Beispiel 4

Nach erfolgter osteochondrale Transplantation wurden einem Patienten eine Lösung mit 6 mg Lubricin und 45 mg Hyaluronsäure in die geschlossene Gelenkkapsel injiziert. Das Lösungsmittel bestand aus 25 ml physiologischer Kochsalzlösung (Ringerlösung), welchem 5% humanes Serum des gleichen Patienten beigemengt wurden. Die endoskopische Untersuchung nach erfolgter physiotherapeutischer Therapie des Gelenks zeigte eine verbesserte Heilung der Schnittflächen zwischen Wirt und Spendergewebe. Der Patient war schmerzfrei und konnte seinen gewohnten Tätigkeiten nachgehen.

Beispiel 5

Chondrozyten wurden von der kein Gewicht tragenden Region der einen Defekt aufweisenden Oberfläche des Kniegelenkes isoliert und direkt in einen offenporigen, elastischen Zellträger-Körper eingepflanzt. Der Zellträger-Körper bestand aus einem zylindrischen, porösen, biodegradierbaren Polyurethan-Gerüst mit einer zum Defekt identischen Grösse von 8 mm x 4 mm. Die Zelldichte betrug $25-30 \times 10^6$. Der in seinen Poren mit Chondrozyten besiedelte Zellträger-Körper wurde in „Dulbecco's modified

Eagles medium" (DMEM) kultiviert, welchem 5 % humanes Serum (des gleichen Patienten), eine Anzahl nicht-essentieller Aminosäuren, nämlich:

L-Alanin (0.89 mg/L), L-Asparagin (1.32 mg/L), L-Asparginsäure (1.33 mg/L), L-Glutaminsäure (1.47 mg/L), Glycin (0.75 mg/L), L-Prolin (1.15 mg/L) und L-Serin (1.05 mg/L),

sowie 40 µg/ml L-Prolin beigegeben worden war.

Zwei Tage nach erfolgter Besiedelung wurden noch 50 µg/ml Ascorbinsäure hinzugefügt. Zusätzlich wurden noch unmittelbar vor Beginn der mechanischen Belastung 0.2 mg Lubricin und 2 mg Hyaluronan pro ml Medium hinzugefügt, von dem 3 ml benötigt wurden. Das Medium wurde täglich ausgewechselt. Nach 6-tägiger Zellkultur wurde der Zellträgerkörper wie nachstehend beschrieben einer mechanischen Belastung ausgesetzt.

Die mechanische Belastung des Zellträgerkörper erfolgte in einem sogenannte Bioreaktor-System, bei welchem der Zellträgerkörper der Wirkung einer Kugel ausgesetzt wurde, so dass sowohl rotative als auch axiale Kräfte auf den Zellträgerkörper aufgebracht werden konnte. Zweimal pro Tage wurde eine einstündige mechanische Belastung dieser Art auf den Zellträgerkörper ausgeübt. In einer Versuchsreihe wurde diese Prozedur von 3 Tagen bis 28 Tagen durchgeführt.

Die erwähnte Zugabe von 0,2 mg Lubricin und 2 mg Hyaluronan resultierte in einer verbesserten Produktion von funktionalem knorpelähnlichem Gewebe, welches nach erfolgter Implantation in einen Knorpeldefekt eine verbesserte physiologische Wirkung zeigt und zu einer optimaleren Heilung des Knorpeldefektes führte.

Patentansprüche

1. Verwendung eines Gemisches aus einer oder mehreren Substanzen der Gruppe A) Lubricin, Proteoglycan 4 (PRG4) und Phospholipide (SAPL); mit einer oder mehreren Substanzen der Gruppe B) Hyaluronsäure, Glycosaminoglycan und Derivate dieser Substanzen; aufgelöst in einem Lösungsmittel, für die Herstellung eines Mittels zur Behandlung von defektem oder degeneriertem Knorpel in vivo.
2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Phospholipide oberflächenaktiver Natur sind.
3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Hyaluronsäure ein Molekulargewicht von mindestens 1×10^6 Da aufweist.
4. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass das Gewichtsverhältnis A/B zwischen den Substanzen der Gruppe A und der Gruppe B im Bereich von 0,05 und 0,40 liegt.
5. Verwendung nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass das Gewichtsverhältnis A/B zwischen den Substanzen der Gruppe A und der Gruppe B im Bereich 0,08 und 0,25 liegt.
6. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass das Lösungsmittel eine Ringer-Lösung, vorzugsweise eine physiologische Kochsalzlösung ist.
7. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass die Konzentration der Substanzen der Gruppe A im Lösungsmittel im Bereich von 0,02 bis 0,05 Gew.-% liegt.

8. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass die Konzentration der Substanzen der Gruppe B im Lösungsmittel im Bereich von 0,2 bis 0,4 Gew.-% liegt.
9. Verwendung eines Gemisches aus einer oder mehreren Substanzen der Gruppe A) Lubricin, Proteoglycan 4 (PRG4) und Phospholipide (SAPL); mit einer oder mehreren Substanzen der Gruppe B) Hyaluronsäure, Glycosaminoglycan und Derivate dieser Substanzen; aufgelöst in einem Lösungsmittel, bei der Herstellung von natürlichem Knorpelersatz in vitro.
10. Verfahren zur Herstellung eines Knorpelersatzmaterials für Knorpeldefekte im Gelenkbereich unter Verwendung eines Gemisches nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass ein offenporiger, elastischer Zellträger-Körper in seinen Poren mit Chondrozyten besiedelt wird; und das Gemisch nach Anspruch 9 in einem physiologisch akzeptablem Lösungsmittel aufgelöst mit den Chondrozyten in Kontakt gebracht wird.
11. Verfahren nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass das Lösungsmittel mit einer laminaren Strömung über den Zellträger-Körper bewegt wird.
12. Verfahren nach Anspruch 10 oder 11, dadurch gekennzeichnet, dass mittels einer gelenkkugelähnlichen Vorrichtung gleichzeitig eine axiale und eine rotative Kraft auf den Zellträgerkörper aufgebracht wird.
13. Verfahren nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass die Rotation der gelenkkugelähnlichen Vorrichtung um zwei orthogonal zueinander stehende Achsen vollführt wird.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/CH2004/000131

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K31/661 A61K31/726 A61K31/728 A61K38/17 A61P19/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, PAJ, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2002 348243 A (DENKI KAGAKU KOGYO KK) 4 December 2002 (2002-12-04)	1-3,6
Y	paragraph '001! paragraph '0010! - '0012! paragraph '0021! paragraph '0026! paragraph '0030! - '0038! -----	4,5,7,8
X	WO 89/01777 A (MACNAUGHT PTY LTD) 9 March 1989 (1989-03-09)	1,2,6
Y	page 1, line 1 - line 15 page 3, line 1 - line 10 page 4, line 22 - page 5, line 28 claim 10 ----- -/-	3-5,7,8

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

& document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

20 October 2004

Date of mailing of the international search report

03/11/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Albrecht, S

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/CH2004/000131

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 5 470 578 A (AOKI SHIGEHISA ET AL) 28 November 1995 (1995-11-28) column 2, line 32 - line 38 column 5, line 12 - line 16 column 13, line 59 - line 64 -----	1-8
Y	WO 03/007784 A (JENKS PHILIP JOSEPH ; MALAVIYA PRASANNA (US); PLOUHAR PAMELA LYNN (US)) 30 January 2003 (2003-01-30) page 4, line 14 - line 31 page 26, line 30 - page 27, line 9 page 31, line 33 - page 32, line 5 -----	1-9
Y	WO 02/062847 A (GLAXO GROUP LTD ; RUSH PRESBYTERIAN ST LUKE (US); DIXON ERIC P (US); H) 15 August 2002 (2002-08-15) page 2, line 17 - line 25 page 4, line 14 - line 18 page 8, line 15 - line 23 page 15, line 8 - line 21 page 17, line 2 - line 3 page 19, line 7 - line 21 -----	1-8
Y	WO 01/68800 A (ATESHIAN GERARD A ; MOW VAN C (US); UNIV COLUMBIA (US); WANG CHANGBIN) 20 September 2001 (2001-09-20) page 1, line 6 - line 10 page 23, line 23 - line 29 -----	9-13
Y	US 5 036 056 A (KLUDAS MARTIN) 30 July 1991 (1991-07-30) column 15; claims 11,12,18 -----	1-8
Y	KAWANO TSUTOMU ET AL: "Mechanical effects of the intraarticular administration of high molecular weight hyaluronic acid plus phospholipid on synovial joint lubrication and prevention of articular cartilage degeneration in experimental osteoarthritis." ARTHRITIS AND RHEUMATISM. JUL 2003, vol. 48, no. 7, July 2003 (2003-07), pages 1923-1929, XP002301692 ISSN: 0004-3591 page 1927 - 1928, chapter "DISCUSSION" -----	1-8
	-/-	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/CH2004/000131

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>GRAD SIBYLLE ET AL: "Chondrocyte SZP/lubricin expression is mediated by applied surface motion." TISSUE ENGINEERING, vol. 9, no. 4, August 2003 (2003-08), pages 797-798, XP002301693 & SECOND MEETING OF THE EUROPEAN TISSUE ENGINEERING SOCIETY; GENOA, ITALY; SEPTEMBER 03-06, 2003 ISSN: 1076-3279 the whole document</p> <p>-----</p>	9-13
Y	<p>GRAD S ET AL: "The use of biodegradable polyurethane scaffolds for cartilage tissue engineering: potential and limitations" BIOMATERIALS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS BV., BARKING, GB, vol. 24, no. 28, December 2003 (2003-12), pages 5163-5171, XP004467222 ISSN: 0142-9612 the whole document</p> <p>-----</p>	9-13
A	<p>JAY G D ET AL: "COMPARISON OF THE BOUNDARY-LUBRICATING ABILITY OF BOVINE SYNOVIAL FLUID, LUBRICIN, AND HEALON" JOURNAL OF BIOMEDICAL MATERIALS RESEARCH, WILEY, NEW YORK, NY, US, vol. 40, no. 3, 5 June 1998 (1998-06-05), pages 414-418, XP000961337 ISSN: 0021-9304 the whole document</p> <p>-----</p>	1-13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

 International Application No
 PCT/CH2004/000131

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date
JP 2002348243	A	04-12-2002	NONE		
WO 8901777	A	09-03-1989	AT 95061 T		15-10-1993
			AU 620821 B2		27-02-1992
			AU 2320888 A		31-03-1989
			WO 8901777 A1		09-03-1989
			CA 1325595 C		28-12-1993
			CN 1033239 A , B		07-06-1989
			DE 3884622 D1		04-11-1993
			DE 3884622 T2		28-04-1994
			EP 0387252 A1		19-09-1990
			JP 3501250 T		22-03-1991
			US 5403592 A		04-04-1995
US 5470578	A	28-11-1995	JP 6072893 A		15-03-1994
			AT 179892 T		15-05-1999
			AU 4431493 A		03-02-1994
			CA 2101482 A1		31-01-1994
			DE 69324859 D1		17-06-1999
			DE 69324859 T2		07-10-1999
			EP 0581282 A1		02-02-1994
WO 03007784	A	30-01-2003	EP 1416874 A2		12-05-2004
			EP 1416886 A2		12-05-2004
			EP 1416887 A2		12-05-2004
			EP 1416878 A1		12-05-2004
			EP 1416888 A2		12-05-2004
			EP 1416876 A2		12-05-2004
			EP 1416879 A2		12-05-2004
			EP 1425024 A2		09-06-2004
			EP 1416880 A2		12-05-2004
			EP 1416866 A2		12-05-2004
			JP 2004522555 T		29-07-2004
			WO 03007784 A2		30-01-2003
			WO 03007786 A2		30-01-2003
			WO 03007787 A2		30-01-2003
			WO 03007788 A2		30-01-2003
			WO 03007847 A1		30-01-2003
			WO 03007789 A2		30-01-2003
			WO 03007790 A2		30-01-2003
			WO 03007879 A2		30-01-2003
			WO 03007839 A2		30-01-2003
			WO 03007805 A2		30-01-2003
			US 2003033021 A1		13-02-2003
			US 2003021827 A1		30-01-2003
			US 2003078617 A1		24-04-2003
			US 2003036801 A1		20-02-2003
			US 2003044444 A1		06-03-2003
			US 2003033022 A1		13-02-2003
			US 2003049299 A1		13-03-2003
			US 2003032961 A1		13-02-2003
			US 2003036797 A1		20-02-2003
			US 2004143344 A1		22-07-2004
WO 02062847	A	15-08-2002	EP 1347993 A2		01-10-2003
			WO 02062847 A2		15-08-2002
			US 2003180948 A1		25-09-2003

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/CH2004/000131

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 0168800	A 20-09-2001	AU WO	4358101 A 0168800 A1	24-09-2001 20-09-2001
US 5036056	A 30-07-1991	AU WO	1966988 A 8900043 A1	30-01-1989 12-01-1989

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/CH2004/000131

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 A61K31/661 A61K31/726 A61K31/728 A61K38/17 A61P19/02

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 A61K A61P

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, PAJ, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie ^a	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	JP 2002 348243 A (DENKI KAGAKU KOGYO KK) 4. Dezember 2002 (2002-12-04)	1-3,6
Y	paragraph '001! paragraph '0010! - '0012! paragraph '0021! paragraph '0026! paragraph '0030! - '0038! -----	4,5,7,8
X	WO 89/01777 A (MACNAUGHT PTY LTD) 9. März 1989 (1989-03-09)	1,2,6
Y	Seite 1, Zeile 1 - Zeile 15 Seite 3, Zeile 1 - Zeile 10 Seite 4, Zeile 22 - Seite 5, Zeile 28 Anspruch 10 ----- -/-	3-5,7,8

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchebericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

*& Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

Absendedatum des internationalen Rechercheberichts

20. Oktober 2004

03/11/2004

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Albrecht, S

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/CH2004/000131

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	US 5 470 578 A (AOKI SHIGEHISA ET AL) 28. November 1995 (1995-11-28) Spalte 2, Zeile 32 – Zeile 38 Spalte 5, Zeile 12 – Zeile 16 Spalte 13, Zeile 59 – Zeile 64 -----	1-8
Y	WO 03/007784 A (JENKS PHILIP JOSEPH ; MALAVIYA PRASANNA (US); PLOUHAR PAMELA LYNN (US)) 30. Januar 2003 (2003-01-30) Seite 4, Zeile 14 – Zeile 31 Seite 26, Zeile 30 – Seite 27, Zeile 9 Seite 31, Zeile 33 – Seite 32, Zeile 5 -----	1-9
Y	WO 02/062847 A (GLAXO GROUP LTD ; RUSH PRESBYTERIAN ST LUKE (US); DIXON ERIC P (US); H) 15. August 2002 (2002-08-15) Seite 2, Zeile 17 – Zeile 25 Seite 4, Zeile 14 – Zeile 18 Seite 8, Zeile 15 – Zeile 23 Seite 15, Zeile 8 – Zeile 21 Seite 17, Zeile 2 – Zeile 3 Seite 19, Zeile 7 – Zeile 21 -----	1-8
Y	WO 01/68800 A (ATESHIAN GERARD A ; MOW VAN C (US); UNIV COLUMBIA (US); WANG CHANGBIN) 20. September 2001 (2001-09-20) Seite 1, Zeile 6 – Zeile 10 Seite 23, Zeile 23 – Zeile 29 -----	9-13
Y	US 5 036 056 A (KLUDAS MARTIN) 30. Juli 1991 (1991-07-30) Spalte 15; Ansprüche 11,12,18 -----	1-8
Y	KAWANO TSUTOMU ET AL: "Mechanical effects of the intraarticular administration of high molecular weight hyaluronic acid plus phospholipid on synovial joint lubrication and prevention of articular cartilage degeneration in experimental osteoarthritis." ARTHRITIS AND RHEUMATISM. JUL 2003, Bd. 48, Nr. 7, Juli 2003 (2003-07), Seiten 1923-1929, XP002301692 ISSN: 0004-3591 page 1927 – 1928, chapter "DISCUSSION" -----	1-8
		-/-

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/CH2004/000131

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	GRAD SIBYLLE ET AL: "Chondrocyte SZP/lubricin expression is mediated by applied surface motion." TISSUE ENGINEERING, Bd. 9, Nr. 4, August 2003 (2003-08), Seiten 797-798, XP002301693 & SECOND MEETING OF THE EUROPEAN TISSUE ENGINEERING SOCIETY; GENOA, ITALY; SEPTEMBER 03-06, 2003 ISSN: 1076-3279 das ganze Dokument -----	9-13
Y	GRAD S ET AL: "The use of biodegradable polyurethane scaffolds for cartilage tissue engineering: potential and limitations" BIOMATERIALS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS BV., BARKING, GB, Bd. 24, Nr. 28, Dezember 2003 (2003-12), Seiten 5163-5171, XP004467222 ISSN: 0142-9612 das ganze Dokument -----	9-13
A	JAY G D ET AL: "COMPARISON OF THE BOUNDARY-LUBRICATING ABILITY OF BOVINE SYNOVIAL FLUID, LUBRICIN, AND HEALON" JOURNAL OF BIOMEDICAL MATERIALS RESEARCH, WILEY, NEW YORK, NY, US, Bd. 40, Nr. 3, 5. Juni 1998 (1998-06-05), Seiten 414-418, XP000961337 ISSN: 0021-9304 das ganze Dokument -----	1-13

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/CH2004/000131

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung		Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
JP 2002348243	A	04-12-2002		KEINE		
WO 8901777	A	09-03-1989		AT 95061 T AU 620821 B2 AU 2320888 A WO 8901777 A1 CA 1325595 C CN 1033239 A , B DE 3884622 D1 DE 3884622 T2 EP 0387252 A1 JP 3501250 T US 5403592 A		15-10-1993 27-02-1992 31-03-1989 09-03-1989 28-12-1993 07-06-1989 04-11-1993 28-04-1994 19-09-1990 22-03-1991 04-04-1995
US 5470578	A	28-11-1995		JP 6072893 A AT 179892 T AU 4431493 A CA 2101482 A1 DE 69324859 D1 DE 69324859 T2 EP 0581282 A1		15-03-1994 15-05-1999 03-02-1994 31-01-1994 17-06-1999 07-10-1999 02-02-1994
WO 03007784	A	30-01-2003		EP 1416874 A2 EP 1416886 A2 EP 1416887 A2 EP 1416878 A1 EP 1416888 A2 EP 1416876 A2 EP 1416879 A2 EP 1425024 A2 EP 1416880 A2 EP 1416866 A2 JP 2004522555 T WO 03007784 A2 WO 03007786 A2 WO 03007787 A2 WO 03007788 A2 WO 03007847 A1 WO 03007789 A2 WO 03007790 A2 WO 03007879 A2 WO 03007839 A2 WO 03007805 A2 US 2003033021 A1 US 2003021827 A1 US 2003078617 A1 US 2003036801 A1 US 2003044444 A1 US 2003033022 A1 US 2003049299 A1 US 2003032961 A1 US 2003036797 A1 US 2004143344 A1		12-05-2004 12-05-2004 12-05-2004 12-05-2004 12-05-2004 12-05-2004 12-05-2004 09-06-2004 12-05-2004 12-05-2004 29-07-2004 30-01-2003 30-01-2003 30-01-2003 30-01-2003 30-01-2003 30-01-2003 30-01-2003 30-01-2003 30-01-2003 30-01-2003 30-01-2003 30-01-2003 30-01-2003 30-01-2003 13-02-2003 30-01-2003 24-04-2003 20-02-2003 06-03-2003 13-02-2003 13-03-2003 13-02-2003 20-02-2003 22-07-2004
WO 02062847	A	15-08-2002		EP 1347993 A2 WO 02062847 A2 US 2003180948 A1		01-10-2003 15-08-2002 25-09-2003

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Inte _____hales Aktenzeichen

PCT/CH2004/000131

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung		Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 0168800	A	20-09-2001	AU WO	4358101 A 0168800 A1		24-09-2001 20-09-2001
US 5036056	A	30-07-1991	AU WO	1966988 A 8900043 A1		30-01-1989 12-01-1989